

Pengembangan Teknik Deteksi *Fusarium* Patogen Pada Umbi Benih Bawang Merah (*Allium ascalonicum*) di Laboratorium [Development of Detection Technique for *Fusarium* Pathogen on Seedling Shallot (*Allium ascalonicum*) Bulb at Laboratory]

Fadhilah, S¹⁾, Wiyono, S²⁾, dan Surahman, M³⁾

¹⁾Balai Besar PPMB-TPH, Kementerian Pertanian, Jl. Raya Tapos Kotak Pos 20, Tapos, Depok, Jawa Barat

²⁾Departemen Proteksi, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

³⁾Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

E-mail : f_dla@yahoo.com

Naskah diterima tanggal 7 Maret 2014 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 5 Juni 2014

ABSTRAK. Penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* merupakan salah satu penyakit penting pada bawang merah (*Allium ascalonicum*). Sebagian besar petani menggunakan umbi sebagai benih dan diketahui bahwa beberapa patogen dapat terbawa oleh benih seperti *Fusarium oxysporum*. Oleh karena itu diperlukan pengujian kesehatan benih untuk mencegah penyebaran penyakit tersebut. Salah satu metode sederhana dan efektif untuk digunakan di laboratorium adalah *blotter test*. Namun beberapa strain *F. oxysporum* terbukti tidak bersifat patogenik, serta tidak dapat dibedakan secara morfologi dengan strain yang bersifat patogenik. Penelitian ini bertujuan menentukan parameter uji dan jumlah sampel minimal dalam deteksi *Fusarium oxysporum* pada umbi bawang merah dengan metode *blotter test*. Hasil pengujian menunjukkan bahwa parameter nekrosis pada *basal plate* umbi bawang merah mempunyai koefisien korelasi (*r*) sebesar 0,77 terhadap tingkat infeksi pada *growing on test* (GOT) dan lebih besar dari tingkat infeksi *fusarium* (0,34) pada *blotter test*. Dari 195 isolat *Fusarium* spp. yang diuji, diketahui bahwa sebagian besar isolat bersifat nonpatogenik. Penentuan jumlah minimal umbi dengan plot kurva rerata jumlah nekrosis pada *basal plate* dan standar deviasi, menunjukkan jumlah sampel umbi minimal untuk *blotter test* adalah 150 umbi. Perhitungan jumlah sampel dengan *formal probability statement* yang menunjukkan jumlah umbi minimal untuk *blotter test* adalah 138 umbi.

Katakunci: Benih; Korelasi; *Blotter test*; Nekrosis; Sampel

ABSTRACT. One of the most important diseases of shallot (*Allium ascalonicum*) in Indonesia is fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum*. Most farmer use shallot bulb for their plantation, and some pathogen can be transmitted by this bulb such as *Fusarium oxysporum*. Blotter test is a simple and effective method to apply in laboratory for seed health testing. Unfortunately, some strains of *F. oxysporum* are not pathogenic and they cannot be distinguished morphologically from pathogenic strains. The research aimed to determine the parameter and the minimum sample number of seed should be applied for *Fusarium oxysporum* detection on shallot bulb by using blotter test. The result showed that necrosis on basal plate of shallot bulb had correlation coefficient (*r*) 0.77 to the disease infection in GOT and it was higher than *Fusarium* infection (0.34). Therefore, necrosis of basal plate can be applied as a parameter in blotter test for *Fusarium* wilt. The 195 isolats of *Fusarium* sp. were tested for pathogenicity and it showed many isolates were found in blotter test were not pathogenic to shallot. Curve plot of necrosis rate and its deviation standard were used to determine the minimum sample number of shallot bulb should be tested in the blotter. The result showed that the minimum sample for blotter test was 150 bulb, and the formal probability statement was also showed that minimum number of shallot was 138 bulbs.

Keyword: Seed; Correlation; Blotter test; Necrosis; Sample number

Bawang merah (*Allium cepa* L. var *ascalonicum* Backer) merupakan salah satu tanaman hortikultura yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Menurut data BPS (Badan Pusat Statistik) luas areal produksi bawang merah di Indonesia pada tahun 2010 mencapai 109 ribu hektar dengan perkiraan kebutuhan benih mencapai 90 ribu ton. Sebagian besar petani di Indonesia menggunakan benih dalam bentuk umbi untuk pertanaman di lapangan. Salah satu permasalahan yang ditemui dalam produksi umbi bawang merah baik di lapangan maupun di gudang penyimpanan adalah penyakit tanaman. Laporan Direktorat Perlindungan Hortikultura, Kementerian Pertanian tahun 2011 menyebutkan bahwa salah satu cendawan patogen dominan yang menyerang tanaman bawang merah di

Indonesia ialah *Fusarium oxysporum* Schlecht emend. Snyder&Hansen yang menjadi penyebab penyakit busuk pangkal umbi dengan luas tambah serangan (LTS) sebesar 618 ha.

Fusarium oxysporum Schlecht emend. Snyder&Hansen merupakan salah satu cendawan patogen yang mampu bertahan di jaringan tanaman yang hidup atau mati, mampu bertahan di tanah, serta pada forma spesiales tertentu dapat ditularkan melalui biji seperti pada *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* pada tanaman kapas kultivar Pima (*Gossypium barbadense* L.) (Bennett *et al.* 2008). Cendawan ini menyebabkan penyakit busuk dan layu vaskular yang dapat menyebabkan tanaman mati.

Cendawan ini dilaporkan memiliki banyak forma spesiales sesuai dengan inang yang diinfeksi, dan masing-masing dibagi ke dalam ras fisiologi yang pola karakteristik virulensi pada berbagai varietas inang yang berbeda. Terdapat 65 forma spesiales *F. oxysporum* yang telah dilaporkan dan salah satu di antaranya ialah *F. oxysporum* f. sp. *cepae* (Armstrong & Armstrong 1968). Serangan *F. oxysporum* pada bawang merah di Sri Lanka menyebabkan kehilangan hasil antara 20–30% (Kuruppu 1999).

Peraturan perbenihan di Indonesia, seperti Undang-Undang No. 12 Tahun 1992 tentang Sistem Budidaya Tanaman menyebutkan definisi benih tanaman adalah tanaman atau bagiannya yang digunakan untuk memperbanyak dan/atau mengembangkan tanaman dan benih bina (benih varietas unggul yang telah dilepas) yang akan diedarkan harus melalui sertifikasi dan memenuhi standar mutu yang ditetapkan oleh Pemerintah. Di dalam Undang-Undang No. 13 Tahun 2010 tentang Hortikultura menetapkan bahwa sarana hortikultura termasuk di dalamnya benih wajib memenuhi standar mutu dan terdaftar. Jika telah memiliki Standar Nasional Indonesia (SNI), maka wajib mencantumkan label SNI pada benih yang diedarkan. SNI Bawang Merah yang diterbitkan pada tahun 2004 telah menetapkan standar kesehatan umbi bawang merah. Pemeriksaan tersebut meliputi pemeriksaan lapangan dan pemeriksaan umbi di gudang penyimpanan, namun belum terdapat prosedur pengujian kesehatan benih di laboratorium. Pada proses sertifikasi benih di laboratorium, ISTA *rules* merupakan acuan dalam pengujian benih baik untuk pengujian mutu fisik, fisiologis maupun kesehatannya. Di dalam ISTA *rules* (ISTA 2011) belum ditetapkan metode standar dan jumlah sampel yang harus diuji untuk deteksi *Fusarium oxysporum* pada benih bawang merah dalam bentuk umbi. Oleh karena itu diperlukan penelitian untuk menetapkan metode uji standar serta jumlah sampel minimal umbi bawang merah untuk mendeteksi *F. oxysporum*.

Berbagai metode dapat digunakan dalam pengujian kesehatan benih di laboratorium. Salah satu metode yang cukup sederhana dan mudah namun tetap mampu memberikan hasil yang cukup akurat dalam pengujian adalah metode *blotter test*. Metode ini juga merupakan salah satu metode standar ISTA (ISTA 2011) untuk pengujian beberapa cendawan antara lain *Drechslera oryzae* dan *Pyricularia oryzae* pada benih padi. Namun beberapa penelitian menyebutkan bahwa *F. oxysporum* yang terbawa umbi bawang merah tidak seluruhnya bersifat patogenik dan terdapat beberapa yang bersifat nonpatogenik. *Fusarium* yang bersifat patogenik tidak dapat dibedakan dengan nonpatogenik secara morfologi, sehingga diperlukan pengujian lebih

lanjut untuk mengetahui apakah cendawan ini bersifat patogenik atau nonpatogenik.

Hasil pengujian yang akurat dari suatu lot benih dapat diperoleh jika sampel yang digunakan dalam proses pengujian mampu mewakili kondisi lot benih tersebut. Banyaknya benih yang diuji menjadi salah satu faktor yang menentukan akurasi hasil pengujian, sehingga perlu diketahui jumlah minimal benih yang harus diuji.

Tujuan penelitian ini menentukan parameter yang sesuai dan jumlah sampel minimal pada *blotter test* untuk deteksi patogen *Fusarium oxysporum* pada umbi benih bawang merah.

Hipotesis dari penelitian ini adalah nekrosis pada *basal plate* umbi bawang merah dapat dijadikan parameter dalam pengujian *blotter test*, untuk mendeteksi patogen *Fusarium* sp. penyebab penyakit layu fusarium pada tanaman bawang merah.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Balai Besar Pengembangan Pengujian Mutu Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura (BBPPMBTPH), Tapos, Depok, dari bulan Januari sampai Desember 2013.

Sampel Pengujian

Sampel umbi benih bawang merah yang digunakan untuk pengujian *blotter test* dan *growing on test* pengujian pada penelitian ini diambil dari empat daerah sentra produksi bawang merah yaitu Cirebon, Brebes, Nganjuk, dan Bantul. Umbi benih diperoleh dari penangkar benih yang merupakan penangkar binaan BPSBTPH setempat, dan dari tiap daerah diambil lot umbi dengan beberapa lokasi penangkaran yang berbeda. Umbi benih bawang merah yang digunakan sudah melalui proses sortasi dan beberapa lot telah melalui proses sertifikasi, sehingga memenuhi syarat untuk digunakan sebagai benih.

Blotter Test

Setiap sampel untuk *blotter test* terdiri atas 200 umbi. Pengujian dilakukan dengan cara meletakkan umbi di atas dua lembar kertas saring steril lembab di dalam kotak. Sebagai perlakuan ialah jumlah umbi pada setiap kotak plastik (berukuran panjang x lebar x tinggi : 33,5x26,5x7 cm) sebanyak 25 butir. Setiap perlakuan diulang sebanyak delapan kali. Bawang merah kemudian diinkubasi di dalam inkubator yang dilengkapi lampu NUV 12 jam terang, 12 jam gelap. Inkubasi dilakukan dalam suhu 20–25°C selama 8 hari.

Parameter yang diamati pada pengujian ini yaitu tingkat infeksi *Fusarium* sp. dan persentase nekrosis pada *basal plate* umbi setelah masa inkubasi. Tingkat infeksi dinyatakan dalam persen.

Pengamatan parameter nekrosis pada umbi yang diuji dalam *blotter test* dilakukan dengan cara membelah tiap umbi. Umbi yang telah dibelah diamati bagian *basal plate* yang menunjukkan gejala nekrosis dan dinyatakan dalam persen jumlah umbi nekrosis pada tiap sampel uji.

Growing on Test (GOT) di Rumah Kasa

Pengujian ini dilakukan di rumah kasa dengan cara menanam umbi pada media pasir steril di dalam kotak plastik (p x l x t : 37x27,5x15 cm). Pasir digunakan hanya untuk satu kali penanaman. Syarat media pasir yang digunakan sebagai media tumbuh pada pengujian ini adalah memiliki tingkat salinitas kurang dari 400 μ S/cm² yang diukur dengan alat *conductivity meter* (ISTA 2011).

Jumlah umbi tiap sampel yang ditanam sebanyak 200 umbi dengan 25 umbi per ulangan. Pengamatan dilakukan setiap 2 hari sekali selama fase pembibitan yaitu sampai 21 hari setelah tanam. Parameter yang diamati adalah tingkat serangan layu fusarium selama fase pembibitan dan dinyatakan dalam persentase tanaman sakit.

Uji Patogenisitas Isolat *Fusarium* sp. Asal Umbi Bawang Merah

Uji patogenisitas isolat *Fusarium* sp. bertujuan untuk mengetahui apakah *Fusarium* yang ditemukan pada tahap pengujian *blotter test* bersifat patogenik atau nonpatogenik. Isolat *Fusarium* diperoleh dengan cara mengisolasi *Fusarium* dari umbi benih bawang yang telah diuji dengan *blotter test* pada media PDA. Isolat murni yang diperoleh disimpan pada agar miring dan diuji tingkat patogenisitasnya pada benih bawang merah dalam bentuk umbi dan biji.

Pengujian patogenisitas pada umbi dilakukan dengan cara menempelkan isolat murni *Fusarium* pada bagian *basal plate* umbi benih yang telah dibelah. Umbi yang digunakan dalam pengujian ini terlebih dahulu disterilkan dengan NaOCl 1% selama 3 menit. Umbi yang telah ditempel isolat murni diletakkan di atas dua lembar kertas saring di dalam cawan petri, kemudian diinkubasi selama 7 hari. Lama waktu inkubasi diperoleh dari pengujian pendahuluan namun data tidak ditampilkan. Pengamatan dilakukan dengan melihat ada tidaknya jaringan nekrosis pada bagian *basal plate* umbi yang diinokulasi *Fusarium*. Isolat dikategorikan patogenik jika terjadi nekrosis pada *basal plate* umbi, dan dikategorikan nonpatogenik jika tidak terdapat jaringan nekrosis pada *basal plate* umbi yang diinokulasi.

Pengujian patogenisitas pada biji dilakukan dengan cara meletakkan 10 biji bawang merah di atas isolat murni cendawan *Fusarium* yang berumur 5–7 hari di dalam botol kaca, kemudian diinkubasi selama 14 hari. Benih yang digunakan dalam pengujian ini terlebih dahulu disterilisasi dengan NaOCl 1% selama 3 menit. Pengamatan patogenisitas isolat berdasarkan ada tidaknya benih yang mampu tumbuh normal selama masa inkubasi, sedangkan isolat dikategorikan nonpatogenik jika terdapat benih yang mampu tumbuh normal pada saat pengamatan.

Penentuan Jumlah Minimal Umbi Benih Bawang Merah untuk Uji *Blotter Test*

Pada pengujian ini perlakuan yang diuji ialah jumlah sampel yaitu 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, dan 200 umbi. Pengambilan sampel dilakukan secara acak dari lot umbi yang ada. Umbi yang digunakan dalam pengujian ini berasal dari satu varietas dan satu lot umbi yang sama yaitu varietas Timur Carwan yang berasal dari daerah Cirebon. Setiap perlakuan diulang lima kali. Pengamatan dilakukan berdasarkan gejala nekrosis pada umbi setelah masa inkubasi. Inkubasi dilakukan di ruang inkubasi dengan suhu terkontrol (22–25°C) dan setiap perlakuan diletakkan secara acak di ruang inkubasi.

Data yang diperoleh ditampilkan dalam grafik berupa persen nekrosis dan standar deviasi dari pengujian (Kranz 1987). Hasil penentuan jumlah sampel berdasarkan grafik tersebut juga dikonfirmasi dengan *formal probability statement* dengan cara menghitung jumlah sampel secara statistik dengan formula Neher & Campbell (1997) sebagai berikut:

$$N = \frac{(t^2)(s^2)}{(d^2)(\bar{x}^2)}$$

N = Jumlah sampel yang dibutuhkan

x = Nilai rerata

s² = Varian

t² = Nilai dari t tabel dengan α 0,05

d² = Setengah dari total panjang selang kepercayaan dalam bentuk proporsi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel Pengujian

Sampel yang digunakan dalam pengujian *blotter test* dan *growing on test* sebanyak 18 sampel dimana enam sampel diperoleh dari Cirebon, lima sampel dari Brebes, dan lima sampel dari Nganjuk, sedangkan dua sampel diperoleh dari Bantul. Varietas bawang

merah dari Cirebon antara lain Bima Curut, Mentas, Timur Carwan, sampel dari Brebes antara lain Bima Brebes dan Manjung, sampel dari Nganjuk antara lain Thailand, Super Philip, Mentas, Manjung, dan Katumi, sedangkan dari Bantul antara lain Tiron dan Crok Kuning, sedangkan sampel untuk penentuan jumlah sampel minimum digunakan varietas Timur Carwan yang diperoleh dari Cirebon.

Empat wilayah (Cirebon, Brebes, Nganjuk, dan Bantul) ditetapkan sebagai tempat pengambilan sampel uji karena merupakan sentra produksi bawang merah terbesar di pulau Jawa. Salah satu serangan penyakit utama yang terjadi di wilayah ini adalah penyakit layu yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum*. Wiyatiningsih *et al.* (2009) menyebutkan bahwa penyakit layu fusarium terdapat di tiga daerah sentra produksi bawang merah yaitu Kabupaten Bantul, Kabupaten Brebes, dan Kabupaten Nganjuk, serta bersifat epidemik pada musim hujan dengan tingkat keparahan penyakit 13,75–30%.

Blotter Test Pada Umbi dan Growing on Test (GOT) di Rumah Kasa

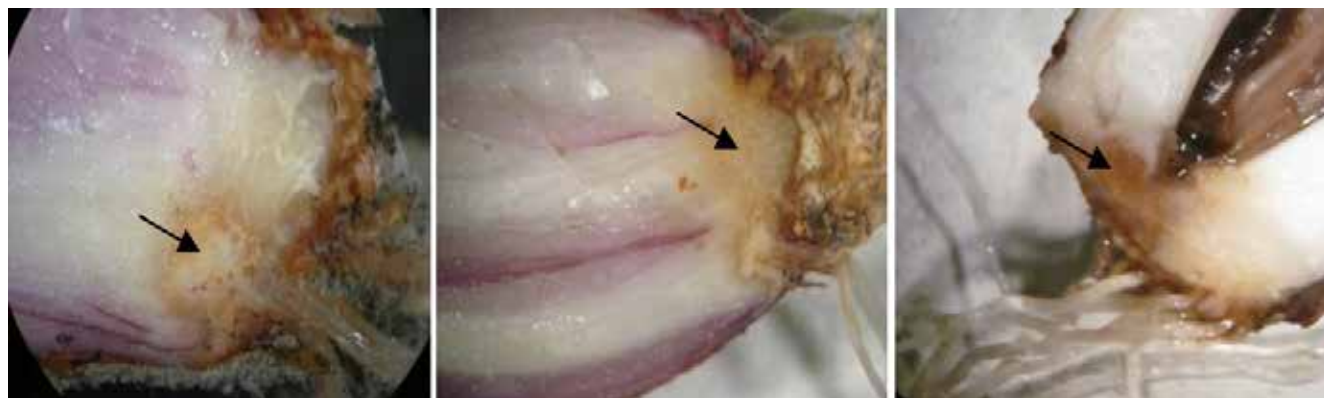
Pada pengamatan tingkat infeksi *Fusarium* sp. diketahui bahwa *Fusarium* menginfeksi pada bagian *basal plate* umbi. Namun tidak semua umbi yang terinfeksi menunjukkan gejala nekrosis atau busuk. Sebagian umbi yang terinfeksi masih segar dan tidak mengalami hambatan perkecambahan selama masa inkubasi. Hasil rerata tingkat infeksi pada sampel umbi bawang merah adalah 78,7%, dengan kisaran tingkat infeksi antara 32–97,5%

Nekrosis pada umbi diamati pada bagian *basal plate* umbi. Ciri nekrosis pada umbi adalah adanya jaringan yang mengalami kematian yang diindikasikan dengan warna coklat pada jaringan tersebut (Gambar

1). Pada tingkat lanjut beberapa umbi menunjukkan gejala nekrosis parah pada seluruh jaringan umbi. Tingkat rerata nekrosis dari seluruh sampel yang diuji adalah 17,3%, dengan kisaran tingkat nekrosis antara 1,5% – 43%.

Metode *blotter test* pada pengujian cendawan pada bawang merah merupakan metode yang cukup sederhana, efektif, dan akurat untuk mendeteksi cendawan terbawa umbi. Metode ini juga merupakan salah satu metode yang telah diakui oleh ISTA untuk pengujian beberapa cendawan terbawa benih seperti *Alternaria padwickii* dan *Drechslera oryzae* pada padi (ISTA 2011). Metode ini juga dilaporkan efektif mendeteksi *F. moniliforme* pada benih padi di Bangladesh (Ora *et al.* 2003).

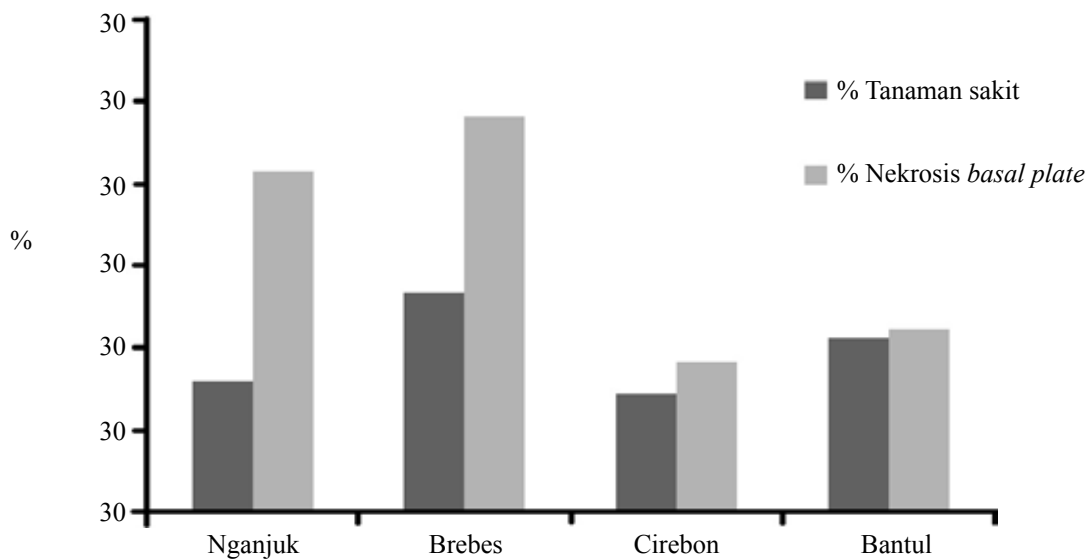
Gejala penyakit layu fusarium pada bawang merah selama masa pertumbuhan di rumah kaca dapat diamati berdasarkan gejala yang tampak, antara lain pada tahap awal pucuk daun yang muncul mulai melingkar (beberapa helai atau semua helai daun yang ada). Kemudian terjadi penguningan atau perubahan warna daun yang melingkar menjadi kuning, dimulai dari pucuk daun ke arah pangkal daun. Pada tahap selanjutnya daun akan mengering dan mengalami kematian. Gejala ini dapat muncul pada tahap awal perkecambahan maupun pada tahap akhir perkecambahan (Gambar 2). Tondok (2001) menjelaskan gejala *twisting* yang disebabkan oleh *F. oxysporum* pada bawang merah dapat dilihat pada 13 hari setelah tanam. Gejala awal berupa klorosis yang diawali pada daun termuda dan diikuti dengan nekrosis pada ujung daun. Kadang-kadang perkembangan gejala klorosis diikuti dengan terjadinya gejala kerdil pada tanaman atau pemanjangan berlebih pada daun. Umbi akan membusuk ketika berkembang gejala nekrosis.



Gambar 1. Gejala nekrosis pada umbi dan pangkal bibit bawang merah (*Necrosis symptom on bulb and basal plate of shallot seedling*)



Gambar 2. Gejala layu fusarium pada bibit bawang merah (*Symptom of fusarium wilt on shallot seedling*)



Gambar 3. Tingkat infeksi layu fusarium berdasarkan wilayah asal sampel (*Infection rate of fusarium wilt based on sample region*)

Kuruppu (1999) menyebutkan gejala pada tanaman dapat terjadi secara acak di lahan pertanaman dan dapat berlangsung sepanjang musim tanam.

Hasil pengujian GOT di rumah kaca menunjukkan bahwa rerata tingkat serangan infeksi layu fusarium di rumah kaca adalah 9,5%, dengan kisaran tingkat infeksi penyakit antara 0%–30%.

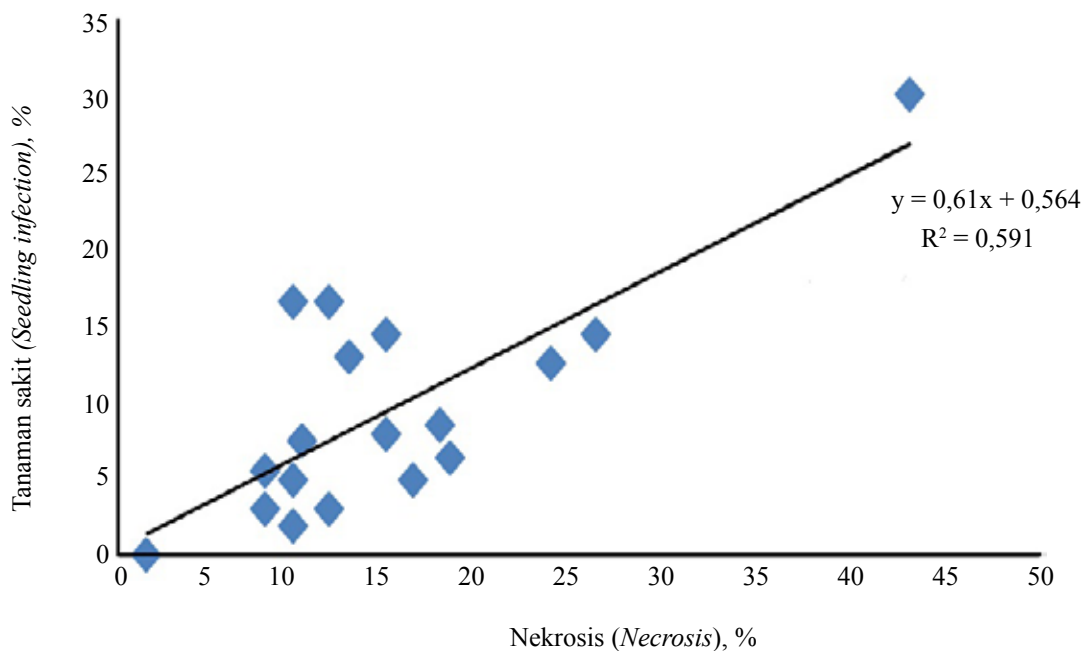
Pada pengujian ini juga diperoleh sebaran tingkat infeksi layu fusarium berdasarkan wilayah asal sampel. Tingkat infeksi tertinggi terdapat di wilayah Brebes dan tingkat infeksi terendah terdapat di wilayah Cirebon (Gambar 3). Hasil sebaran tingkat infeksi layu fusarium berdasarkan wilayah asal sampel menunjukkan bahwa keempat daerah sentra produksi bawang merah telah menjadi daerah endemi layu fusarium. Abawi & Lorbeer (1971b) menyebutkan bahwa pada daerah pertanian yang mempunyai sejarah lahan dimana

selalu ditemukan penyakit busuk pangkal batang fusarium mempunyai populasi *F. oxysporum* f. sp. *cepae* tertinggi dibandingkan dengan daerah yang belum pernah dilaporkan mengenai penyakit tersebut.

Korelasi Parameter Pengujian *Blotter test* Dengan Tingkat Infeksi Penyakit Layu *fusarium* Pada Pengujian *Growing on Test* (GOT) di Rumah Kasa

Pengujian GOT di rumah kaca diperlukan untuk mengetahui parameter yang tepat pada pengujian *blotter test* serta cukup berkorelasi dengan tingkat serangan penyakit layu fusarium di lapangan.

Hasil uji korelasi antara hasil *blotter test* dan GOT di rumah kaca menunjukkan bahwa untuk parameter persen infeksi *Fusarium* sp. dan persen tanaman sakit memiliki koefisien korelasi (r) sebesar 0,34, sedangkan untuk parameter persen nekrosis dan persen tanaman sakit diperoleh koefisien korelasi (r) sebesar 0,77. Nilai



Gambar 4. Grafik hubungan tingkat nekrosis umbi antara *blotter test* dan tingkat tanaman sakit pada GOT di rumah kaca (*Correlation graphic of bulb necrosis rate between blotter test and seedling infection rate on GOT in screen house*)

r pada parameter nekrosis memiliki kategori hubungan yang kuat antara tingkat nekrosis pada *blotter test* dan tingkat infeksi layu fusarium pada tanaman muda di rumah kaca, sehingga nekrosis dapat digunakan sebagai parameter untuk pendugaan penyakit layu fusarium di *blotter test*. Persamaan regresi yang diperoleh dari tingkat nekrosis dan tanaman sakit adalah $y = 0,61x + 0,564$ dengan nilai R^2 sebesar 0,591 (Gambar 4).

Terjadinya perbedaan tingkat infeksi penyakit di GOT dengan hasil pengujian di laboratorium dapat disebabkan oleh adanya beberapa faktor antara lain keberadaan *Fusarium* nonpatogenik. Hal ini didukung dengan hasil pengujian terhadap 195 isolat yang diperoleh dari tahap pengujian *blotter test* yang menunjukkan bahwa 71,3% isolat tidak bersifat patogenik pada umbi dan 29,7% tidak bersifat patogenik pada biji.

Tingkat infeksi *Fusarium* sp. cukup tinggi pada *blotter test*, namun parameter ini tidak dapat menjadi penduga tingkat infeksi patogen layu fusarium di tingkat pembibitan. Keberadaan *Fusarium* nonpatogenik diduga menyebabkan koefisien korelasi *Fusarium* pada *blotter test* rendah, selain itu *Fusarium* patogenik dan nonpatogenik tidak dapat dibedakan secara visual tanpa adanya uji patogenisitas pada saat *blotter test*. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa terdapat strain *Fusarium oxysporum* yang bersifat nonpatogenik pada beberapa inang antara lain pada melon (Appel & Gordon 1994), bayam (Fiely *et al.* 1995) dan cabai (Joshi *et al.* 2012). Widodo *et al.* (2008) juga

menemukan 173 isolat *F. oxysporum* nonpatogenik dari tanah dan umbi bawang bombay yang terserang penyakit di Hokaido, Jepang. Selain itu, beberapa formae *F. oxysporum* nonpatogenik dilaporkan lebih efektif menurunkan penyakit layu fusarium pada tomat dibandingkan cendawan nonpatogenik lainnya (Davis 1968, da Silva & Bettiol 2005). Hasil analisis untuk keragaman genetik 41 strain *Fusarium oxysporum* dari akar tanaman tomat menunjukkan terdapat 20 strain bersifat patogenik dan 21 strain bersifat nonpatogenik (Bao *et al.* 2002). Beberapa penelitian melaporkan bahwa cendawan patogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* yang menyebabkan busuk akar dan pangkal batang pada tanaman tomat mampu dikendalikan melalui penambahan cendawan nonpatogenik *F. oxysporum* Fo47 ke dalam tanah. Inokulasi dengan Fo47 meningkatkan aktivitas kitinase, β -1,3-glucanase, dan β -1,4-glucosidase yang menginduksi ketahanan di dalam tanaman tomat (Fuchs *et al.* 1997). Selain itu, cendawan *Fusarium* nonpatogenik diduga berpengaruh terhadap perkembangan *Fusarium oxysporum* patogenik yang disebabkan adanya kompetisi ruang dan waktu selama proses perkembangan cendawan. Beberapa mekanisme pengendalian *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* oleh *Fusarium oxysporum* nonpatogenik Fo47 adalah tingkat perkecambahan spora dan kompetisi penggunaan nutrisi pada permukaan akar tanaman tomat (Bolwerk *et al.* 2005).

Cendawan *F. oxysporum* menginfeksi umbi sejak di lapang. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa

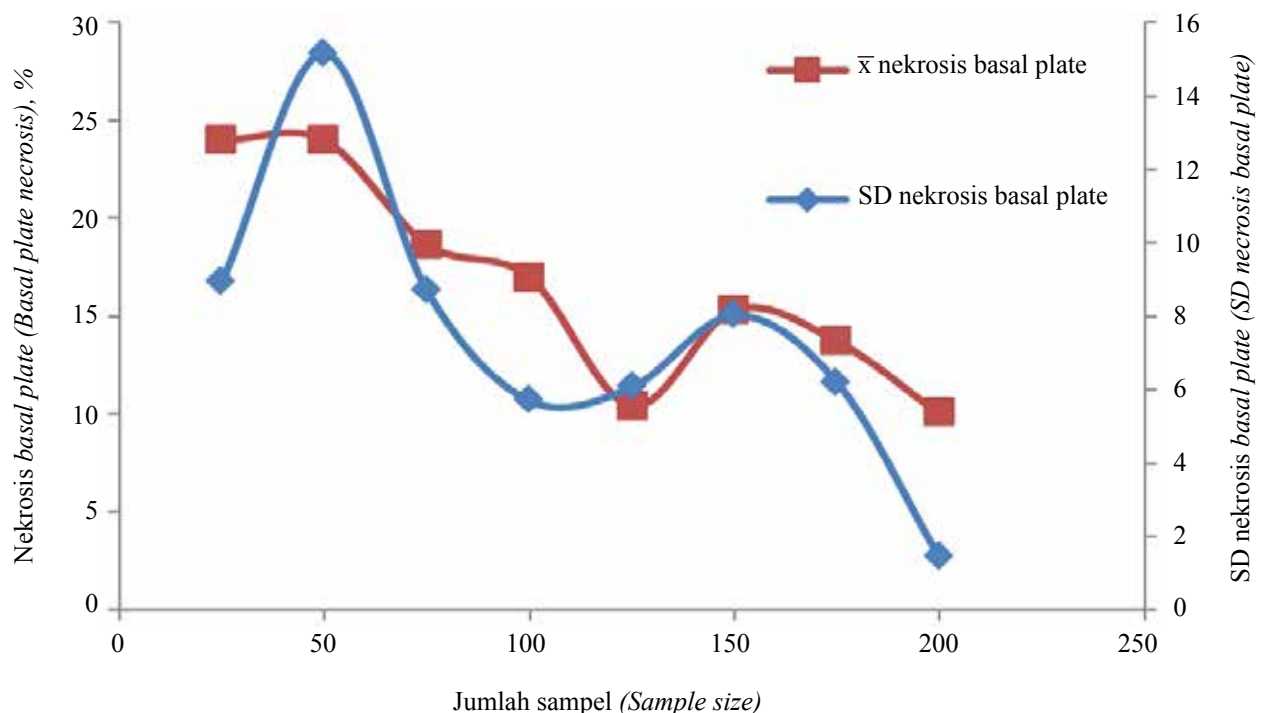
F. oxysporum f. sp. *cepae* menginvasi jaringan melalui penetrasi langsung pada permukaan jaringan maupun luka pada jaringan (Abawi & Lorbeer 1971a). Infeksi awal pada bawang bombay biasanya terjadi pada akar atau *basal plate* melalui umbi tanaman bawang bombay. Ketika pangkal batang (*stemplate*) mulai membusuk, maka gejala bagian tanaman diatas tanah mulai muncul, dan jika umbi yang terinfeksi dibelah secara vertikal maka terdapat bagian *basal plate* yang berwarna kecoklatan dan menyebabkan jaringan terlihat berair (Widodo 2000). Parameter nekrosis berdasarkan gejala yang ditimbulkan oleh infeksi *Fusarium* pada *basal plate* yang berupa jaringan nekrosis, dapat menjadi indikasi infeksi *F. oxysporum* pada umbi dan parameter ini memiliki nilai koefisien korelasi yang lebih tinggi dibanding dengan tingkat infeksi *Fusarium* pada umbi.

Penentuan Jumlah Sampel Minimum untuk Pengujian Blotter test

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari tahap sebelumnya, pada tahap pengujian ini parameter yang digunakan adalah tingkat nekrosis pada umbi. Perkiraan ukuran dapat diperoleh dari dua pendekatan, yang pertama yaitu diperoleh secara sederhana dari sampel contoh, intensitas penyakit dihitung dari jumlah unit sampling dan rerata yang diperoleh serta nilai standar deviasi yang diplot dalam koordinat kurva

yang memperlihatkan jumlah unit sampel. Kurva akan mendatar setelah mencapai ukuran sampel tertentu dan jumlah sampel dapat dipilih pada titik-titik tersebut (Gambar 5) (Kranz 1987). Neher & Campbell (1997) menyatakan jumlah sampel (N) yang diambil untuk penilaian penyakit menentukan kualitas data atau reliabilitas dan biaya penilaian. Salah satu faktor yang harus diperhatikan dalam menentukan jumlah sampel adalah estimasi statistik dari nilai rerata dan varian yang diperoleh dalam sampel pendahuluan. Jumlah sampel dapat ditentukan melalui plot data nilai rerata dan standar deviasi dari sampel terhadap jumlah minimum sampel yang diuji pada satu grafik, sehingga diperoleh titik yang kedua nilai tersebut mulai konstan. Pendekatan yang kedua diperoleh dengan cara perhitungan berdasarkan *formal probability statement*.

Hasil pengujian menunjukkan tingkat nekrosis pada bawang sangat berfluktuasi pada jumlah sampel di bawah 150 umbi (Gambar 5), sedangkan pada sampel di atas 150 umbi tingkat nekrosis mulai terlihat menurun secara konstan. Hal ini juga diperkuat dengan hasil perhitungan statistik pada *formal probability statement* dengan tingkat kepercayaan 95%, estimasi tingkat keparahan penyakit sebesar 10% di dalam rata-rata populasi sesungguhnya, dan diketahui $n(x):40, : 30, s^2: 17.69, d: 0.1$, maka diperoleh nilai N sebesar 138. Untuk memudahkan dalam perhitungan persentasi tingkat infeksi pada pengujian di laboratorium, jumlah



Gambar 5. Grafik hubungan jumlah sampel dan tingkat nekrosis umbi pada pengujian blotter test (*Correlation graphic between sample size and bulb necrosis rate on blotter test*)

sampel yang digunakan pada umumnya dalam jumlah bulat, sehingga dengan N minimal 138, maka jumlah minimum sampel yang diuji dapat dibulatkan menjadi 150 umbi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Tingkat nekrosis *basal plate* pada uji *blotter test* merupakan penduga atau parameter yang baik dalam penentuan tingkat infeksi patogen *Fusarium* pada umbi benih bawang merah. Jumlah sampel umbi minimal untuk *blotter test* bawang merah adalah 150 umbi.

PUSTAKA

1. Abawi, GS & Lorbeer, JW 1971a, 'Pathological histology of four onion cultivar infected by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cepae*', *Phytopathol.*, vol. 61, pp. 1164-9.
2. Abawi, GS & Lorbeer, JW 1971b, 'Population of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* in organics soils in New York', *Phytopathol.*, vol. 61, pp. 1042-8.
3. Armstrong, GM & Armstrong, JK 1968, 'Formae specialis and races of *Fusarium oxysporum* causing a tracheomycosis in the syndrome of disease', *Phytopathol.*, vol. 58, pp. 1242-6.
4. Appel, DJ & Gordon, TR 1994, 'Local and regional variation in population of *Fusarium oxysporum* from agricultural field soil', *Phytopathol.*, vol. 84, pp. 786-91.
5. Bao, JR, Deborah, RF, Nichole, RO, George, L & Peter van B 2002, 'Genetic analysis of pathogenic and non-pathogenic *Fusarium oxysporum* from tomato plants', *Can. J. Bot.*, vol. 80, pp. 271-9.
6. Badan Pusat Statistik 2010, *Luas panen, produksi dan produktivitas bawang merah, tahun 2009-2010*, diunduh 24 April 2012, <http://www.bps.go.id/tab_sub/view.php?tabel=1&daftar=1&id_subyek=55¬ab=14>.
7. Bennett, RS, Hutmacher, RB & Davis, RM 2008 'Seed transmission of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* race 4 in California', *The Journal of Cotton Science*, vol. 12, pp.160-4.
8. Bolwerk, A, Anastasia, LL, Ben, JJJ & Guido, VB 2005, 'Visualization of interactions between a pathogenic and a beneficial *Fusarium* strain During biocontrol of tomato foot and root rot', *Mol. Plant-Microbe Interaction*, vol. 18, no. 7, pp. 710-21.
9. Direktorat Perbenihan dan Sarana Produksi 2009, 'Standar prosedur operasional produksi benih bawang merah (*Allium ascalonicum* L)', diunduh 11 Maret 2014, <<http://ditbenih.hortikultura.deptan.go.id/sopbenih/SOPbwmerah.pdf>>.
10. Da Silva, JC & Bettiol, H 2005, 'Potential of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* isolates for control of fusarium wilt of tomato', *Fitopatol. Bras.*, vol. 50, no. 4, pp. 409-12.
11. Davis, D 1968, 'Partial control of fusarium wilt in tomato by formae of *Fusarium oxysporum*', *Phytopathol.*, vol. 58, no. 1, pp. 121-2.
12. Fiely, MB, Correll, JC & Morelock, TE 1995, 'Vegetative compatibility, pathogenicity, and virulency of *Fusarium oxysporum* from spinach', *Plant Dis.*, vol. 79, pp. 990-3.
13. Fuchs, JG, Moenne-Loccoz, Y & Defago, G 1997, 'Non-pathogenic *Fusarium oxysporum* strain Fo47 induces resistance to fusarium wilt in tomato', *Plant Dis.*, vol. 81, no.5, pp. 492-6.
14. ISTA 2011, *ISTA rules*, International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.
15. Joshi, M, Srivastava, R, Sharma, AK & Prakash, A 2012, 'Screening of Resistant varieties and antagonistic *Fusarium oxysporum* for biocontrol of fusarium wilt of chilli', *J Plant Pathol. Microb.*, vol. 3, no. 5, viewed 28 April 2014, <<http://dx.doi.org/10.4172/2157-7471.1000134>>.
16. Kranz, J 1987, 'Measuring plant disease', in *Experimental Technique in Plant Disease Epidemiology*, Springer, Jerman, pp. 35-50.
17. Kuruppu, PU 1999, 'First report of *Fusarium oxysporum* causing a leaf twisting disease on *Allium cepa* var. *ascalonicum* in Sri Lanka', *Plant Dis.*, vol. 83, pp. 695.
18. Neher, DA & Campbell, CL 1997, 'Determining sample size', in: *Exercise in plant disease epidemiology*, The American Phytopathological Society, Minnesota, USA, pp. 12-5.
19. Ora, N, Faruq, AN, Islam, MT, Akhtar, N & Rahman, MM 2011, 'Detection and identification of seed borne pathogens from some cultivated hybrid rice varieties in Bangladesh', *Middle-East J. Scientific Research*, vol. 10, no. 4, pp. 482-8.
20. Tondok, ET 2001, 'Twisting disease caused by *Fusarium oxysporum* on shallot (*Allium cepa* L. var. *agregatum* G. Don.) in Indonesia', Disertasi Institute of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Georg-August-University Göttingen, Jerman.
21. Widodo 2000, 'Studies on biological of fusarium basal rot of onion caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cepae*', Disertasi, Graduate School of Agriculture, Hokkaido university, Jepang.
22. Widodo, Kondo, N, Kobayashi, K & Ogoshi, A 2008, 'Vegetative compatibility groups within *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* in Hokkaido-Japan', *Microbiol. Ind.*, vol. 2, no. 1, pp. 39-43.
23. Wiyatiningsih, S, Arif, W & Endang, TP 2009, 'Keparahan penyakit moler pada enam kultivar bawang merah karena infeksi *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* di tiga daerah sentra produksi', *Prosiding Seminar Nasional Akselerasi Pengembangan Teknologi Pertanian Dalam Mendukung Revitalisasi Pertanian*. Fak. Pertanian & LPPM UPN Veteran, Jawa Timur.